Rev. Écol. Biol. Sol., 1978, **15** (3) : 297-310.

Influence des racines asymbiotiques et des mycorhizes de *Picea abies* (L.) Karst sur la microflore tellurique

PAR

Gérard KILBERTUS, Etienne KIFFER et Jacques PROTH

Université de Nancy I - Laboratoire de Botanique et de Microbiologie
Case officielle N° 140 - 54037 Nancy Cedex - France

Dans un sol en repos et en l'absence de perturbations externes, la population microbienne tend vers un « climax ». Dans ces conditions, elle ne varie guère car les quantités d'aliments disponibles sont faibles (BROWN, 1975). Cependant cet équilibre est éphémère et sa durée est à l'image du temps de génération des bactéries. L'introduction d'un aliment ou d'une plante par exemple peut modifier de façon drastique les populations de ce biotope. De plus, la croissance et le développement des racines, en transformant partiellement le microhabitat, changent constamment la composition qualitative et quantitative des flores bactérienne et fongique.

De ce fait, on ne peut obtenir qu'une image ponctuelle des phénomènes se déroulant dans la rhizosphère et mycorhizosphère.

C'est le but de ce travail : étudier à un moment donné, l'influence des racines asymbiotiques et des mycorhizes (formées par *Hebeloma crustuliniforme* (Bull. ex St Amans) Quel.) de *Picea abies* (L.) Karst. sur la microflore d'un sol forestier.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1) Obtention de plantules axéniques.

Les graines de *P. abies* provenant de Montriond (Jura) nous ont été fournies par la station d'amélioration du CNRF Nancy. Elles sont d'abord lavées à l'eau courante durant 24 h, puis stérilisées pendant 1/4 h à l'hypochlorite de sodium à 12° chlorométriques, rincées à l'eau stérile et déposées sur gélose à l'eau (1,5 ‰) en boîte de Petri (KIFFER, 1974).

Reçu le 5-7-77.

Après 4 à 7 jours les graines germent. Les plantules contaminées sont éliminées. Celles qui sont saines sont repiquées aseptiquement en fioles de 250 ml après que leur radicule ait atteint 1 à 2 cm.

2) Obtention de jeunes plantules mycorhizées ou non.

Dans des fioles de 250 ml à col large, on introduit le mélange suivant :

— 120 ml de vermiculite

— 30 de tourbe

avec 100 ml de milieu de MELIN-NORKRANS modifié (MARX, 1969). L'ensemble est stérilisé 2 fois de suite à 24 h d'intervalle, pendant 30 minutes à 120° C.

15 fioles sont inoculées par *Hebeloma crustuliniforme* un mois avant le repiquage des plantules, afin de permettre la colonisation du milieu par le champignon ; 15 fioles ne sont pas inoculées.

30 jours après l'introduction du champignon on repique 3 plantules d'épicéa dans chaque récipient. Le coton bouchant les fioles est alors remplacé par un film de polyéthylène stérile maintenu en place par un ruban adhésif. Ce film, tout en conservant l'aseptie et l'humidité du milieu, autorise les échanges gazeux nécessaires à la plante, et permet un éclairement supplémentaire. Ces fioles sont placées sous éclairage artificiel (tubes fluorescents et lampes à incandescence : 5000 lux, avec 16 h. d'éclairement et 8 h. d'obscurité). Les plantules sont cultivées 4 mois dans ces conditions.

3) Mise en place de l'expérience.

Le sol utilisé (sol brun lessivé) provient d'une plantation expérimentale d'épicéa (La Sivrite, 54, France). Ses caractéristiques pédologiques ont été précisées antérieurement (KIFFER, 1974). Le champignon mycorhizien *(H. crustuliniforme)* a aussi été isolé de cette station.

Après homogénéisation, le sol est réparti dans des pots de terre cuite de 12 cm de diamètre et 12 cm de haut. On prépare 3 séries de 15 pots, l'une recevant des plantules mycorhizées, une autre des épicéas non mycorhizés, à raison de 3 individus par pot, et une troisième série sans plantules servant de témoin. L'ensemble est placé sous l'éclairage décrit précédemment durant 3 semaines. Cette période a été choisie en se basant sur des expériences antérieures (KIFFER, 1974) où l'on avait pu constater que la durée minimum nécessaire à la mycorhization de *P. abies* par *Cenococcum graniforme* (Sow.) Ferd. et Winge (champignon mycorhizant le plus rapidement d'après cet auteur) était d'environ 4 semaines. On évite ainsi la formation de mycorhizes sur les plantes témoins et de complexes autres que ceux dus à *H. crustuliniforme* chez les plantules déjà mycorhizées.

L'humidité des pots est maintenue à la valeur de la capacité de rétention du sol par apport périodique d'eau distillée.

4) Examen microbiologique.

a) *Rhizosphère et mycorhizosphère.*

Après 3 semaines de culture, les plantules sont prélevées et les grosses particules de terre entourant les racines éliminées. Les organes souterrains des plantules avec la terre adhérant fortement à leur surface sont agités dans 100 ml d'eau stérile.

Le système racinaire des plantules non mycorhizées a été alors observé à la loupe binoculaire. Nous n'avons relevé qu'exceptionnellement, non pas des mycorhizes, mais un léger réseau mycélien à la surface des racines courtes. De ce fait, nous pouvons affirmer que les modifications de microflore que nous avons constatées par la suite sont bien dues à un effet rhizosphérique et non mycorhizosphérique. Les observations en M.E.T. ont d'ailleurs confirmé cette affirmation.

Cette mince couche de terre est considérée comme représentant la rhizosphère ou la mycorhizosphère, c'est-à-dire la partie du sol soumise indiscutablement à l'influence des racines mycorhizées ou non.

b) *Étude microbiologique*

Nous avons réalisé des dilutions à partir :

— de la rhizosphère

— de la mycorhizosphère

— du sol témoin incubé dans les mêmes conditions que les précédentes.

Les milieux suivants ont été ensemencés :

— bouillon nutritif gélosé (8 g de nutrient broth et 15 g de gélose)
— milieu gélosé à l'extrait de malt (15 g de malt, 15 g de gélose)
— milieu pour organismes cellulolytiques (solution saline de Dubos, 15 g de gélose, milieu recouvert d'un papier-filtre stérile).

Les bactéries isolées sur bouillon nutritif ont été déterminées selon les techniques décrites dans les Documents de Travaux Dirigés de Bactériologie (KILBERTUS *et al.*, 1977) et à l'aide des ouvrages suivants : BERGEY (1974) et SKERMAN (1967). Les champignons ont été identifiés grâce aux Travaux Dirigés de Mycologie (REISINGER *et al.*, 1977) ainsi qu'aux livres de BARRON (1968) et d'ELLIS (1971).

5) **Études ultrastructurales.**

Les sols provenant des 3 traitements ont été étudiés selon les techniques décrites par KILBERTUS et KIFFER (1977). Après l'inclusion dans l'Epon, les coupes fines obtenues ont été contrastées au citrate de plomb (REYNOLDS, 1963) ou à l'aide de la technique de mise en évidence des polysaccharides (THIERY, 1967).

RÉSULTATS

Les études de l'effet rhizosphère chez les espèces arborescentes sont encore en nombre limité à l'heure actuelle. On peut citer les travaux de NEAL *et al.* (1968) sur le sapin de Douglas et l'aulne, de RUNOV et ZHDAMNIKOVA (1960) sur le bouleau et l'épicéa, de SAMTSEVITCH (1956) sur le chêne, le mélèze et le sapin, de DANGERFIELD *et al.* (1975) sur le pin.

Précédemment (KIFFER *et al.*, 1977) nous avons pu observer des différences quantitatives importantes au niveau du rhizoplan et du mycorhizoplan de *P. abies*. Cette étude nous permettra de vérifier si la présence du champignon, dans les racines infectées, ou de très nombreuses bactéries, à la surface et dans les cellules corticales externes mortes de l'épicéa non mycorhizé, n'inhibe pas l'influence que pourraient avoir les racines sur le sol environnant.

1) **Évolution de la microflore totale.**

Les résultats quantitatifs obtenus par les techniques microbiologiques classiques (Tab. I) sont conformes à ceux publiés par d'autres auteurs (STARKEY, 1931 ; WEST et LOCKHEAD, 1940 ; KATZNELSON et ROUATT, 1957 ; ROUATT *et al.*, 1960 ; KATZNELSON, 1961 ; ROVIRA, 1965 ; SKYRING et QUADLING, 1969 ; DANGERFIELD *et al.*, 1975 ; etc...).

Le nombre des microorganismes est de 20 à 40 fois plus élevé dans la rhizosphère et la mycorhizosphère que dans le sol témoin incubé dans les mêmes conditions. Bien que le nombre moyen obtenu en présence du champignon soit plus grand, les différences ne sont pas statistiquement significatives par rapport au nombre de microorganismes obtenus à partir des racines non infectées. Lorsque l'on considère la flore cellulolytique, on note en particulier une augmentation très sensible du nombre des bactéries dans la mycorhizosphère.

Cette expérience prouve déjà que la microflore tellurique subit une influence très nette de la part des racines d'épicéa colonisées ou non par le champignon symbiote. Il reste cependant à préciser si ce sont tous les principaux groupes de microrganismes qui bénéficient de la présence des organes souterrains de la plante, ou s'il s'agit effectivement d'une stimulation préférentielle (DOMMERGUES et MANGENOT, 1970 ; GRAY et WILLIAMS, 1975).

2) Évolution qualitative de la population fongique.

Les champignons les plus fréquents (*Penicillium* sp., *Chrysosporium* sp. *Trichoderma* sp. et un mycélium blanc stérile) sont rencontrés dans les 3 catégories de sols. Ce n'est que dans le sol témoin que nous avons rencontré *Oidiodendron griseum, Paecilomyces* sp., alors que ce n'est que dans la rhizosphère que l'on a trouvé *Cladosporium* sp., *Cephalosporium* sp. et *Rhizopus* sp. Enfin, *Gliomastix* sp. et *Rhinocladiella* sp. n'ont été isolés qu'à partir de la mycorhizosphère.

TAB. I

Résultats des numérations

Eléments analysés / Nombre de germes par g de sol sec à 105° C	Microflore bactérienne totale en millions			Microflore bactérienne cellulolytique en milliers		
	S sol témoin	R rhizosphère	M mycorhizosphère	S sol témoin	R rhizosphère	M mycorhizosphère
Répétition 1	3,22	79,6	72,5	1,2	7,4	218
— 2	2,11	74,0	86,5	0	0	243
— 3	4,58	72,2	100,4	1,2	22,2	282
— 4	4,46	44,4	86,5	1,2	0	212
— 5	3,35	62,9	97,6	1,2	—	—
Moyenne	3,54	66,6	88,6	0,96	7,4	240

TAB. II

Relevés des populations bactériennes dans les sols témoins (T), les rhizosphères (R) et les mycorhizosphères (M)

Souches	T	R	M
Pseudomonas sp.	1,50	22,00	2,00
Arthrobacter sp. 1	8,50	20,00	2,00
Arthrobacter sp. 2	17,00	40,00	54,00
Arthrobacter sp. 3	26,00	10,00	30,00
Bacillus cereus	7,50	2,00	2,00
Bacillus brevis	—	—	4,00
Bacillus mycoides	2,00	—	
Bacillus sp.	2,00		
Micrococcus luteus	25,00	1,00	—
Flavobacterium sp.	—	—	1,00
Chromobacterium violaceum	—	—	1,00
Streptomyces sp. 1	—	1,00	—
Streptomyces sp. 2 (producteur de pigment brun hydrosoluble)	7,50	—	—
Indéterminées	3,00	4,00	2,00

Cependant, les techniques de numération sont trop imparfaites pour pouvoir estimer éventuellement les effets de la plante sur
lurique. Cette influence, du fait de la morphologie particu
gnons, devrait s'évaluer en fonction de la masse cellulaire (ROVIRA, 1965). Les différences que nous avons observées ne sont pas significatives même du point de vue qualitatif et seul l'emploi de techniques particulières telles que celles de HARLEY et WAID (1955) nous permettrait éventuellement de saisir des différences.

3) Évolution qualitative de la microflore bactérienne

CHAN et KATZNELSON (1961) ont pu constater que dans la rhizosphère, les *Pseudomonas* sont souvent plus nombreux que les *Arthrobacter*. Cette supériorité serait due à leur taux de croissance élevé, à une latence réduite, à leur aptitude à produire des substances inhibitrices par leur acidité au cours du métabolisme glucidique et à la synthèse de pigments fluorescents fréquemment inhibiteurs vis à vis d'autres procaryotes. Selon GRAY et WILLIAMS (1975), ce sont les bâtonnets Gram — qui sont le plus stimulés, alors que les bâtonnets et cocci Gram + seraient moins affectés. Selon VAGNEROVA *et al.* (1960 a et b), les bactéries Gram — à croissance rapide sont trouvées à la surface des racines, alors que les coques et bâtonnets sporulés à croissance rapide se retrouvent essentiellement dans le sol non soumis à l'action des plantes.

ROUATT et KATZNELSON (1961) ont aussi isolé des *Pseudomonas* de la rhizosphère, et des *Arthrobacter* du sol témoin.

Considérant notre sol témoin, les résultats obtenus confirment ceux des auteurs précédents : la population procaryotique de ce milieu est dominée par les *Arthrobacter*, les *Bacillus* et les *Micrococcus*. Il en est de même dans d'autres sols (CLARK, 1967 ; BUKOWSKI, 1975 ; HOLDING, 1960 ; KILBERTUS *et al.*, 1977). Les résultats obtenus en microscopie électronique (KILBERTUS et PROTH, 1977 ; KILBERTUS *et al.*, 1977) mettent également en évidence la présence de bâtonnets sporulés ou non entre les agrégats, mais l'intérieur de ces agrégats renferme des colonies bactériennes entourées de particules argileuses. Or selon HATTORI (1973), les parties internes de ces agrégats seraient essentiellement colonisées par des bactéries Gram—.

En tenant compte du fait que les bâtonnets sporulés sont généralement isolés et libres et que les bactéries Gram — sont généralement entourées par une gaîne polysaccharidique, elle-même entourée par une gangue d'argile, on peut se poser des questions quant aux résultats quantitatifs obtenus dans ces conditions. En effet, chaque *Bacillus* donnera naissance à une colonie, au même titre que les amas (souvent de 20 à 50 germes) de microorganismes. La présence des minéraux et des polysaccharides peut en outre influer sur le temps de latence, par conséquent sur la vitesse d'apparition des colonies en boîte de Petri.

Il s'ensuit que même si les microorganismes sont adaptés au milieu de culture, les rapports quantitatifs entre germes sont faussés.

Enfin les résultats de VAGNEROVA *et al.* (1960 a et b) obtenus pour le blé, ne sont pas applicables à l'épicéa, car au cours d'une étude antérieure

(KIFFER *et al.*, 1977) nous avons pu constater la présence d'abondante bactéries sporulées à la surface des racines non mycorhizées de *P. abies*.

Dans notre sol rhizosphérique, le pourcentage des *Pseudomonas* augmente de façon sensible, mais il en est de même des *Arthrobacter* sp1 et sp2, ceci au détriment des *Arthrobacter* sp3 et de *Micrococcus luteus*. Dans la mycorhizosphère ce sont *Arthrobacter* sp2 et sp3 qui voient leur nombre croître, alors que les *Micrococcus* ont disparu et que le nombre des *Pseudomonas* est comparable à celui du témoin.

Enfin, en présence de racines mycorhizées ou non les *Bacillus* ont tendance à disparaître. Donc, même en tenant compte des réserves qui s'imposent quant à la validité de la technique employée, on peut constater que les principales espèces isolées ne sont pas favorisées de la même manière, et que nous assistons à une stimulation préférentielle d'un ou plusieurs germes selon les cas.

4) Étude en microscopie électronique du sol témoin, de la rhizosphère et de la mycorhizosphère.

Le sol témoin est riche en matière organique encore imparfaitement décomposée. On peut en effet y reconnaître des exines de grains de pollen avec les deux couches (sexine et nexine) parfaitement reconnaissables (Fig. 4). Cette enveloppe a l'aspect particulier de celle des gamétophytes mâles de conifères décrits par WILLEMSE (1972). Ces structures résistent particulièrement bien à la biodégradation, comme en témoignent nos récentes expériences sur la décomposition des grains de pollen de *Taxus baccata* (ROHR et KILBERTUS ; 1977).

Dans ce milieu on peut aussi rencontrer des spores fongiques plus ou moins dégradées ainsi que des débris de paroi cellulaire. Dans tous les cas, des particules d'argile s'adsorbent à leur surface.

Ce sol, malgré le brassage initial, reste très hétérogène. Les débris organiques de composition variée constituent autant de niches écologiques potentielles et différentes, permettant lorsque les conditions sont favorables le développement d'une microflore spécialisée.

Les procaryotes observés sont rarement seuls et dans ce cas il s'agit fréquemment de microorganismes allongés (Fig. 5). Généralement les germes sont groupés en colonies (Fig. 1, 2, 3) et noyés dans une substance de nature mucilagineuse, le tout étant entouré par une gaine de feuillets d'argile. L'adsorption de ces minéraux est un phénomène encore imparfaitement expliqué (MARSHALL, 1975). Cependant, la présence de substances de nature polysaccharique altère la qualité des charges négatives des phyllosilicates qui de ce fait ne sont plus repoussés par les bactéries dont la charge de surface est de même signe (CORPE, 1970 ; HARRIS et MITCHELL, 1973).

Les procaryotes présentent souvent un cytoplasme contracté, ce qui est plus ou moins caractéristique d'une cellule à l'état de repos ou en voie de dégénérescence (Fig. 1 et 2). Parfois on peut voir aussi (Fig. 3) à l'intérieur de la cellule un système membranaire plus ou moins net, rappelant celui de certaines Nitrobacteriaceae (WATSON *et al.*, 1971 ; WATSON, 1971).

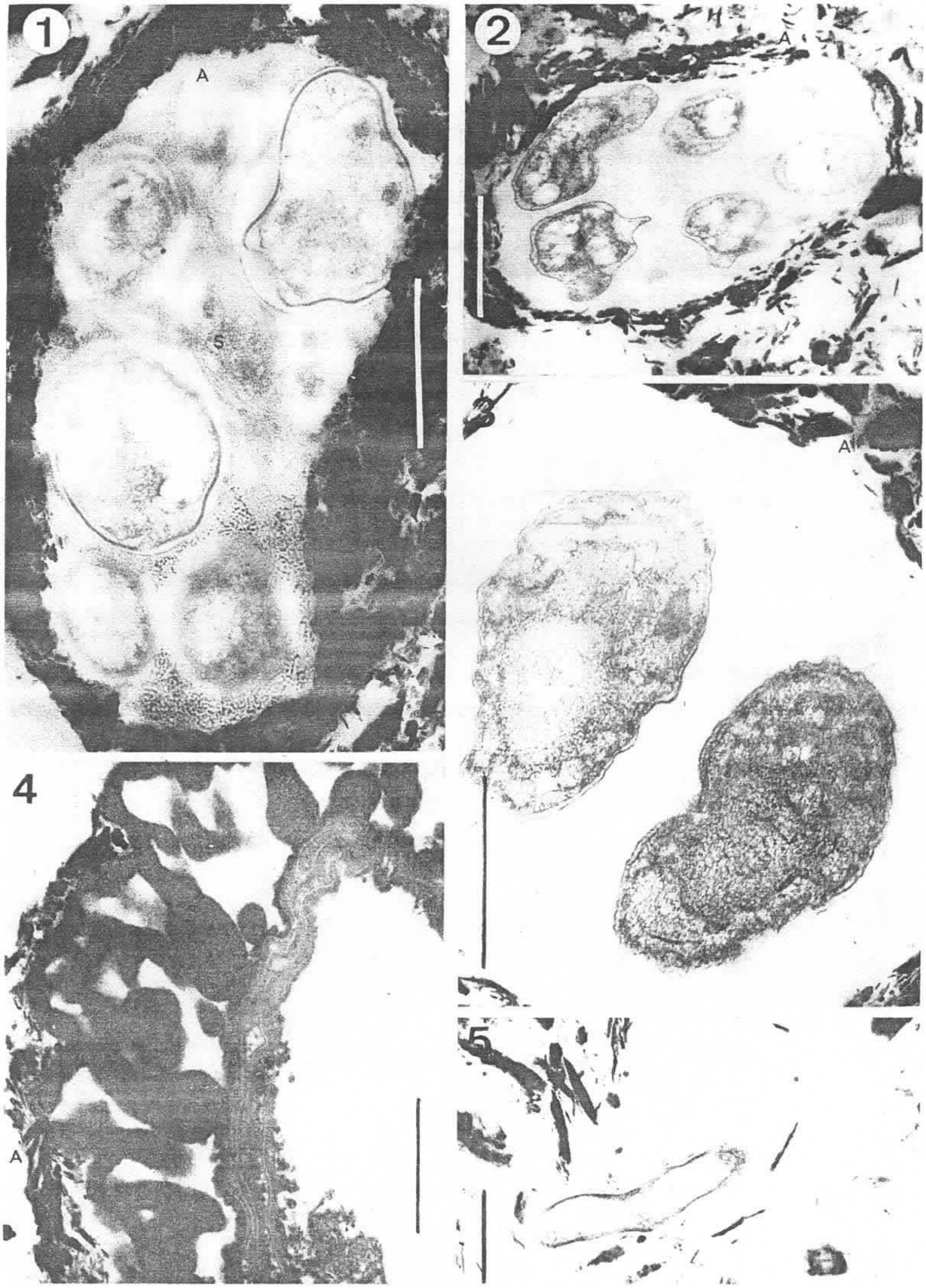

FIG. 1 - 5. — 1, 2 et 3 : Sol témoin. Colonies de microrganismes englobés dans des substances polysaccharidiques (S) et entourés par une gaine argileuse (A). R. 4 : Sol témoin. Exine de grain de pollen avec minéraux argileux (A) à sa surface. R. 5 : Sol témoin. Microorganisme allongé libre parmi les particules minérales.
— les échelles correspondent à 1 μm.
— R : coupes contrastées au citrate de plomb (technique de Reynolds).
— T : mise en évidence des polysaccharides (technique de Thiéry).

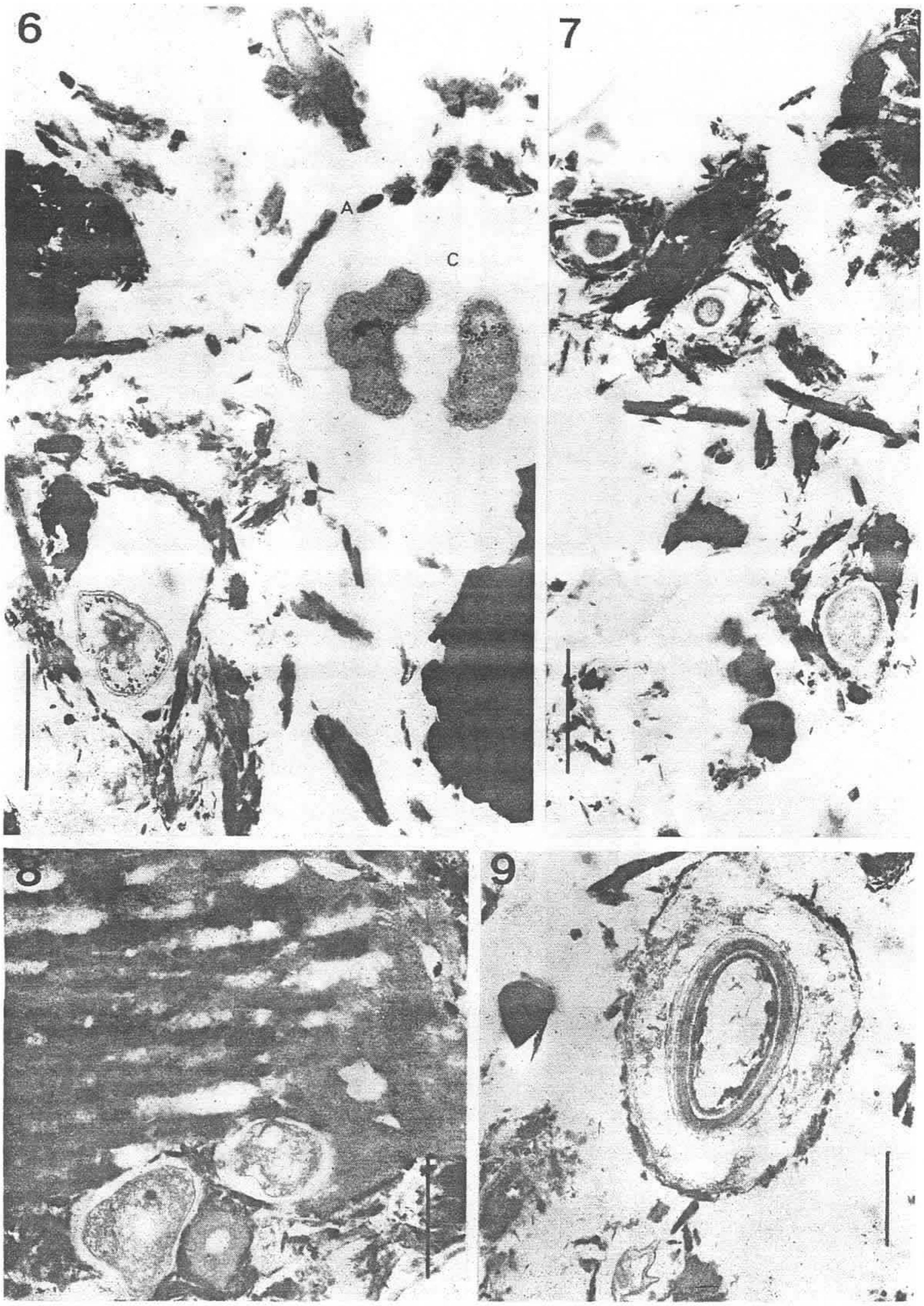

FIG. 6-9. — R. 6 : Sol rhizosphérique. Colonies bactériennes parfois encore visibles (C). La gaine argileuse (A) est réduite. T. 7 et 9 : Sol rhizosphérique. Microorganismes isolés. 7 : R. 9 : T. 8 : Sol rhizosphérique. Microorganismes dégradant des substances présentant des analogies ultrastructurales avec la chitine des insectes.

La taille des cellules confirme nos résultats antérieurs (KILBERTUS et KIFFER, 1977). Elle est généralement comprise entre 0,5 et 1 µm. Dans le cas de ce sol, les procaryotes « nains » sont toujours plus grands que ceux de même type observés par BAE *et al.* (1972). Ces auteurs avaient pu constater en effet que 72 % des cellules examinées avaient un diamètre inférieur à 0,3 µm.

Les hyphes enfin ne sont pas présentes dans ces agrégats, ce qui confirme nos expériences précédentes (KILBERTUS et PROTH, 1977a ; KILBERTUS *et al.*, 1977). En accord avec HATTORI (1973), nous considérons qu'elles sont localisées à la périphérie de ces amas, ou dans les fragments organiques encore peu décomposés.

Les rhizosphères et mycorhizosphères apparaissent plus homogènes que le sol témoin. Parmi les débris organiques on observe souvent des substances dont l'ultrastructure rappelle celle de la chitine des insectes (Fig. 8).

Dans le sol rhizosphérique, il est encore possible de voir des colonies bactériennes, mais la proportion de ces formations par rapport aux cellules isolées est faible, et la gaine minérale qui les entoure est réduite (Fig. 6). En général, les germes sont seuls et très nombreux au milieu des particules argileuses (Fig 7 et 9). Il en est de même dans la mycorhizosphère (Fig. 12), mais dans ce cas, les colonies semblent plus fréquentes et les enveloppes minérales plus épaisses que précédemment (Fig. 10 et 11). Souvent, dans ce dernier biotope, les bactéries sont mortes ou en voie de dégénérescence (Fig. 13). Cela laisserait supposer que, contrairement à ce qui se passe dans l'environnement des racines non infectées, la composition qualitative des associations microbiennes des sols témoins persiste plus longtemps dans la mycorhizosphère. Nous avons déjà pu constater auparavant (KIFFER *et al.*, 1977) que les populations procaryotiques diffèrent fortement lorsqu'on observe le rhizoplan ou le mycorhizoplan, les modifications les plus importantes se situant au niveau des racines asymbiotiques. Nous avons assisté en particulier à une pénétration des bactéries dans les assises superficielles des tissus corticaux, ce qui n'était pas le cas en présence des mycorhizes. Cette différence explique peut-être partiellement les modifications vues dans la rhizosphère, ainsi que le stade intermédiaire apparent rencontré dans la mycorhizosphère.

De ces résultats on peut aussi déduire que les différences quantitatives observées entre les trois types de sols ne sont pas uniquement attribuables à une augmentation du nombre de germes sous l'influence d'un apport d'aliments. Elles peuvent également être imputables à une libération des procarytes groupés en colonies à l'intérieur des agrégats.

III. — **CONCLUSIONS**

Les techniques microbiologiques classiques ont confirmé les travaux d'autres auteurs, en montrant en particulier une augmentation importante du nombre de germes dans la rhizosphère et mycorhizosphère.

Si les différences qualitatives ne sont pas sensibles pour les champignons, les espèces bactériennes déterminées changent en fonction du sol. Les germes appartenant aux genres *Arthrobacter*, *Bacillus* et *Micrococcus* domi-

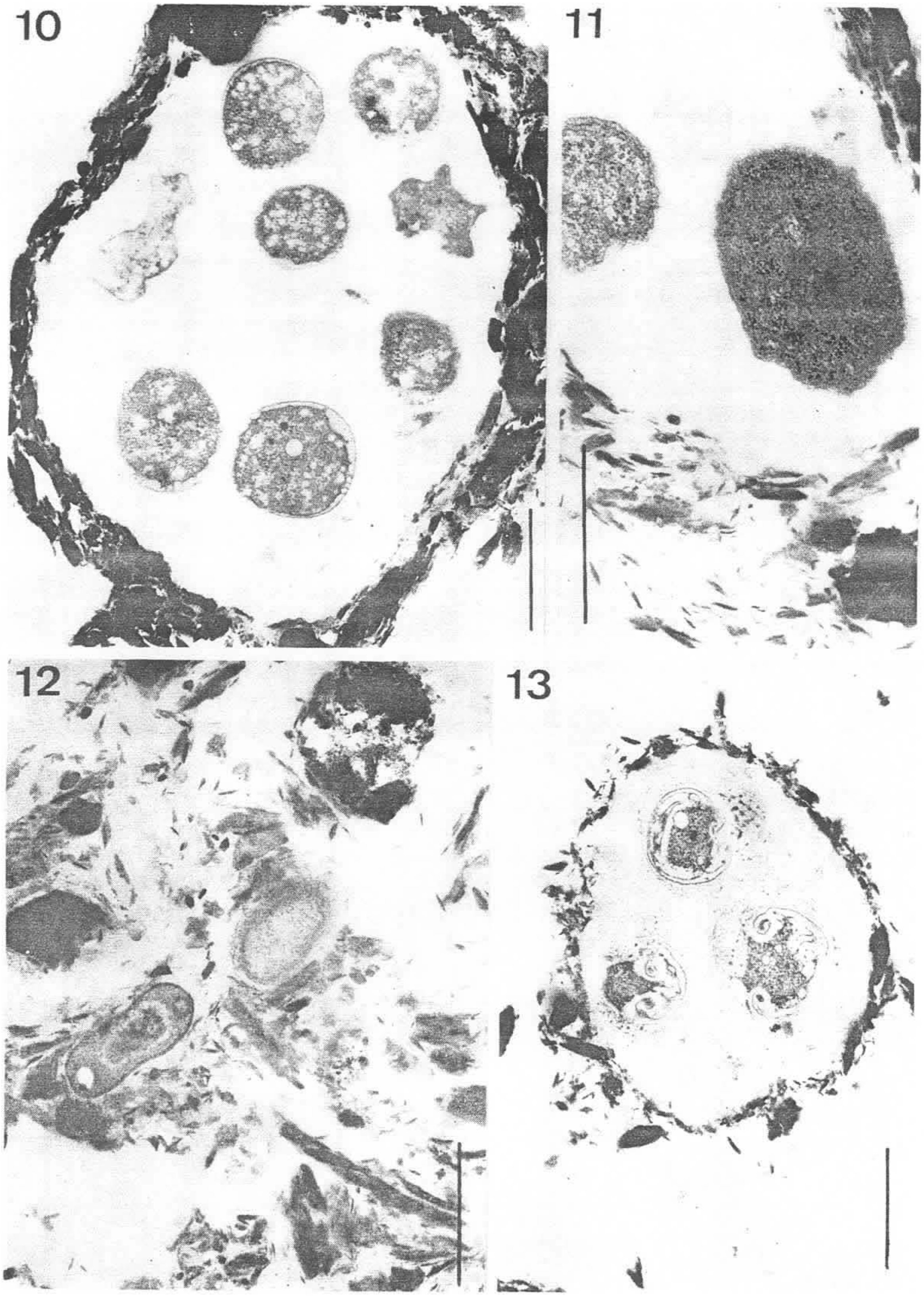

FIG. 10 - 13. — R. 10 et 11 : Sol mycorhizosphérique. Colonies bactériennes entourées par la gaine argileuse. 10 : R. 11 : T. 12 : Microorganismes libres dans la mycorhizosphère. T. 13 : Colonies bactériennes en voie de dégénérescence. R.

nent dans le sol témoin, alors que ceux du genre *Pseudomonas* augmentent en nombre dans les sols rhizosphérique et mycorhizosphérique. Cependant dans ces deux derniers cas, les *Arthrobacter* restent très abondants.

Les études ultrastructurales de ces sols montrent également des différences : les sols rhizosphérique et mycorhizosphérique apparaissent plus homogènes que le sol témoin, les débris végétaux y sont moins abondants et moins variés.

Les colonies bactériennes ont tendance à disparaître autour des racines pour être remplacées par des bactéries isolées. Il semble que l'apport d'aliments entraîne une désorganisation de ces amas de procaryotes, ainsi que l'altération ou la modification des agrégats du sol. Les colonies sont en effet contenues dans ces formations (KILBERTUS *et al.*, 1977).

On peut aussi en déduire que la numération des germes dans le sol témoin est sous-estimée, et que les différences quantitatives ne sont pas aussi importantes qu'elles le paraissent.

D'autre part, seule une quantité réduite de germes présente des morphologies différentes et particulières, ce qui laisse supposer que le nombre d'espèces est relativement faible. Tout comme les analyses microbiologiques classiques, la microscopie électronique n'a pas pu mettre en évidence de façon précise une évolution qualitative importante de la microflore. Il semble donc bien que les différences soient dues à une modification des populations de germes liée à la sélectivité du biotope. Ce changement modeste est aussi du à la microflore du rhizoplan et du mycorhizoplan. Nous avons en effet pu voir (KIFFER *et al.*, 1977) que dans le premier cas il existait une population bactérienne très importante dans les assises superficielles de l'écorce, alors que dans le deuxième cas, on constate la présence du champignon symbiotique. Il est possible que ces deux types de population inhibent partiellement l'effet des racines sur la microflore tellurique en métabolisant plus ou moins les substances contenues dans les exsudats racinaires. C'est pourquoi il est extrêmement important de préciser par la suite, à notre avis, les notions de rhizoplan et de rhizosphère.

RÉSUMÉ

Les populations microbiennes de la rhizosphère et de la mycorhizosphère de *Picea abies* ainsi que celle d'un sol témoin ont été analysées selon les techniques microbiologiques classiques et à l'aide de la microscopie électronique à transmission.

Les résultats obtenus sur milieux de culture confirment ceux de la littérature, avec en particulier une augmentation importante de germes dans la rhizosphère et la mycorhizosphère. Des différences qualitatives ont été notées.

En microscopie électronique, on note la présence de bactéries libres dans le sol rhizosphérique, alors qu'elles sont groupées en colonies dans le sol témoin. Dans le sol mycorhizosphérique paraît exister une situation intermédiaire.

SUMMARY

The microbial populations of the rhizosphere and the mycorrhizosphere of *Picea abies*, and of a control soil were analyzed with the usual microbiological methods and with transmission electron microscopy.

The quantitative results obtained on culture media agreed with those of other authors. The number of microorganisms were higher in the rhizosphere and the mycorrhizosphere. There were also qualitative differences.

With the electron microscope, free bacteria were seen in the rhizosphere, while they were mainly grouped in colonies in the control soil. In the mycorrhizospheric soil they seemed to be in an intermediate condition.

Bibliographie

Bae (H. C.), Costa-Robles (E. H.) et Casida (L. E.) Jr., 1972. — Microflora of soil as viewed by transmission electron microscopy. *Appl. Microbiol.*, **23**: 637-648.

Barron (G. L.), 1968. — The genera of Hyphomycetes from soil. *The Williams and Wilkins Co, Baltimore*, 364 pp.

Bergey's Manual of determinative bacteriology. 8th edition. *The Williams and Wilkins Co, Baltimore*, 1 246 pp.

Brown (M. E.), 1975. — Rhizosphere micro-organisms. Opportunists, bandits or benefactors ? (*in* : *Soil Microbiology*, ed. N. *Walker*) Butterworths, London and Boston, 21-38.

Bukowski (Z.), 1975. — Effect of several ecological factors on soil bacteria. *VIIth scientific session on soil biology. Kesthely.*

Chan (E. C. S.) et Katznelson (H.), 1961. — Growth interactions of *Arthrobacter globiformis* and *Pseudomonas* sp. in relation to rhizosphere effects. *Can J. Microbiol.*, **7**: 759.

Clark (F. E.), 1967. — Bacteria in soil. *Soil Biology. Acad.* Pr. 15-49.

Corpe (W. A.), 1970. — An acid polysaccharide produced by a primary film-forming marine bacterium. *Dev. Ind. Microbiol.*, **11**: 402-412.

Dangerfield (J. A.), Westlake (D. W. S.) et Cook (F. D.), 1975. — Quantitative assessment of the bacterial rhizosphere flora of *Pinus contorta* var. *latifolia*. *Can J. Microbiol.*, **21**: 2034-2048.

Dommergues (Y.), et Mangenot (F.), 1970. — Écologie microbienne du sol. *Masson, Paris*, 796 pp.

Ellis (M. B.), 1971. — Dematiaceous Hyphomycetes. *C. M. I., Kew*, 608 pp.

Gray (T. R. G.) et Williams (S. T.), 1971. — Soil Micro-organisms. *Hafner Publ. Co, NY*, 240 pp.

Harley (J. L.) et Waid (J. S.), 1955. — A method of studying active mycelia on living root and other surfaces in the soil. *Trans. Brit. mycol. Soc.*, **38**: 104-118.

Harris (R. H.) et Mitchell (R.), 1973. — The role of polymers in microbial aggregation. *Annu. Rev. Microbiol.*, **27**: 27-50.

Hattori (T.), 1973. — Microbial life in the soil : an introduction. *Dekker, NY*, 427 pp.

Holding (A. J.), 1960. — The properties and classification of predominant Gram-negative bacteria in soil. *J. appl. Bact.*, **23**: 515-525.

Katznelson (H.), 1961. — Microorganisms in the rhizosphere (*in* : *Recent advances in Botany* I) *Toronto Univ. Pr.*, 610-614.

Katznelson (H.) et Rouatt (J. W.), 1957. — Manometric studies on rhizosphere and non-rhizosphere soil. *Can. J. Microbiol.*, **3**: 673-678.

KIFFER (E.), 1974. — Étude des champignons mycorrhiziens et de quelques autres souches associées à l'épicéa en Lorraine. *Thèse Doct. Spec. Univ. Nancy I.* 109 pp. *Mimeogr.*

KIFFER (E.), KILBERTUS (G.) et PROTH (J.). — Rhizoplan et mycorrhizoplan de *Picea abies* (L.), Karst. (à paraître).

KILBERTUS (G.) et KIFFER (E.). — Use of electron microscopy for soil microbiology. Capabilities and limitations. *Zbl Mikrobiol.* (sous presse).

KILBERTUS (G.) et PROTH (J.). — Electron microscopy and soil microbiology. Techniques in Microbial Ecology (B. M. S.) Reading, 1977 (à paraître).

KILBERTUS (G.), PROTH (J.) et MANGENOT (F.). — Sur la survivance et la répartition des microorganismes du sol. *Bull. Acad. Soc. Lor. Sci.* (à paraître).

KILBERTUS (G.), REISINGER (O.) et MOUREY (A.), 1977. — Documents de Travaux Dirigés. *Univ. Nancy I,* 250 pp.

MARSHALL (K. C.), 1975. — Clay mineralogy in relation to survival of soil bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.,* **13**: 357-373.

MARX (D. H.), 1969. — The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of Pine roots to pathogenic infection I : antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology,* **59**: 153-163.

NEAL (J. L.), LU (K. C.) BOLLEN (W. B.) et TRAPPE (J. M.), 1968. — A comparison of rhizosphere microfloras associated with mycorrhizae of red alder and Douglas (*in* : *Biology of Alder,* eds J. M. Trappe *et all.*) USDA For. Serv., 57-71.

REISINGER (O.), KILBERTUS (G.) et KIFFER (E.), 1977. — Documents de Travaux Dirigés de Mycologie. *Univ. Nancy I,* 190 pp.

REYNOLDS (E. S.), 1963. — The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.,* **17**: 208-212.

ROHR (R.) et KILBERTUS (G.). — Dégradation du pollen de *Taxus baccata* L. par les microorganismes du sol. *Natur. Canad.* (à paraître).

ROUATT (J. W.) et KATZNELSON (H.), 1961. — A study of the bacteria on the root surface and in the rhizosphere of crop plants. *J. appl. Bact.,* **24**: 164-171.

ROVIRA (A. D.), 1965. — Plant root exsudates and their influence upon soil microorganisms (*in* : *Ecology of soil-borne plant pathogens,* eds K. F. Baker et W. C. Snyder) Univ. Calif. Pr., Berkeley, 170-184.

RUNOV (E. A.) et ZHDANNIKOVA (E. N.), 1960. — The rhizosphere microflora of birch and spruce on various soils of the central Zaiga in the Volodga region. Envirnt Canada Transl. OOENV TR 128.

SAMTSEVITCH (S. A.), 1956. — The biodynamics of the rhizosphere of deciduous and coniferous tree-plantings in the forest-steppe. *Mykrobiologyia,* **25**: 49-56.

SKERMAN (V. B. D.), 1967. — A guide to the identification of the genera of bacteria. The Williams and Wilkins Co, Baltimore, 303 pp.

SKYRING (G. W.) et QUALDING, 1969. — Soil bacteria : comparisons of rhizosphere and non rhizosphere populations. *Can. J. Microbiol.,* **15**: 473.

STARKEY (R. L.), 1931. — Some influences of the development of higher plants upon the micro-organisms in the soil IV : influence of proximity of roots on abundance and activity of micro-organisms. *Soil Sci.,* **32**: 367-393.

THIERY (J. P.), 1967. — Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. *J. Microscopie,* **6**: 987-1017.

VAGNEROVA (K.), MACURA (J.) et CATSKA (V.), 1960 a. — Rhizosphere microflora of wheat I : composition of bacterial flora during the first stages of growth. *Folia microbiol.* Praha, **5**: 298-310.

VAGNEROVA (K.), MACURA (J.) et CATSKA (V.), 1960 b. — Rhizosphere microflora of wheat II : composition and properties of bacterial flora during the vegetation period of wheat. *Folia microbiol.,* Praha, **5**: 311-319.

WATSON (S. W.), 1971. — Taxonomic considerations of the family *Nitrobacteriaceae* Buchanan. Requests for opinions. *Int. J. Syst. Bacteriol.,* **21**: 254-270.

WATSON (S. W.), GRAHAM (L. B.), REMSEN (C. C.) et VALOIS (F. W.), 1971. — A lobular ammonia-oxidizing bacterium, *Nitrosobolus multiformis* nov. sp. *Arch. Mikrobiol.,* **76**: 83-203.

WEST (P. M.) et LOCKHEAD (A. G.), 1940. — Qualitative studies of soil microorganisms IV : the rhizosphere in relation to the nutritive requirements of soil bacteria. *Can. J. Research,* **18**: 129.